

Evaluación del *screening* en el diagnóstico actual del cáncer de próstata. Desarrollo de nuevos biomarcadores urinarios

EVALUATION OF THE SCREENING IN CURRENT DIAGNOSIS OF PROSTATIC CANCER. NEW DEVELOPMENT OF URINARY BIOMARKERS

Antonio Jiménez Pacheco (1), José María Peinado Herreros (2), Alfonso López Luque (1), María Concepción Iribar Ibabe (2)

1) Servicio de Urología. Hospital Santa Ana. Motril. Granada

2) Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III e Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad de Granada

Resumen

El cáncer de próstata (CaP) es el tumor maligno no cutáneo más frecuente en el hombre, y supone la segunda causa de muerte por cáncer en hombres en EEUU, sólo superado por el cáncer de pulmón. Constituye unos de los problemas sanitarios más importantes en nuestro medio, tanto en términos de morbilidad, como de impacto social, económico o sobre la calidad de vida. Sin embargo a pesar de tratarse de un cáncer muy prevalente el *screening* del cáncer de próstata es aún controvertido. Las principales técnicas utilizadas en la evaluación inicial del cáncer de próstata son el examen digito-rectal, antígeno prostático específico (PSA) sérico, y la ecografía transrectal de próstata.

El PSA, es considerado actualmente, el biomarcador más importante para la detección y monitorización del CaP, sin embargo carece de especificidad.

Esto ha llevado a la búsqueda de biomarcadores tanto urinarios como en sangre, que supongan una alternativa, para superar esa falta de especificidad.

Recientemente se han propuesto una serie de marcadores biológicos alternativos en distintos tipos de tumores, entre los que se encuentra el CaP.

Palabras clave: Antígeno prostático específico, Biomarcadores urinarios, Cáncer de próstata, Diagnóstico.

Abstract

Prostate cancer (PCa) tumor is the most common non-cutaneous malignancy in men, and is the second leading cause of cancer death in men in the U.S, exceeded only by lung cancer. It is one of the most important health problems in our environment, both in terms of morbidity and mortality, as social, economic or quality of life. But despite being a highly prevalent cancer screening for prostate cancer remains controversial. The main techniques used in the initial evaluation of prostate cancer are finger-rectal examination, serum prostatic specific antigen (PSA), prostate transrectal ultrasound.

The PSA is considered the most important biomarker for the detection and monitoring of prostate cancer, however it lacks specificity. This has led to the search for biomarkers in both urine and blood, which constitute an alternative to overcome this lack of specificity.

Have recently proposed a series of alternative biological markers in different types of tumors, including PCa found.

Keywords: Prostate specific antigen, urinary biomarkers, prostate cancer, Diagnosis

1. Epidemiología del cáncer de próstata

El cáncer de próstata (CaP) es el tumor maligno no cutáneo más frecuente en el hombre, con una incidencia de 192.280 casos por año en los Estados Unidos (1,2). También supone la segunda causa de muerte por cáncer en hombres en EEUU, sólo superado por el cáncer de pulmón. En la Unión Europea, se ha estimado que aproximadamente 2.6 millones de casos nuevos de CaP son diagnosticados cada año. En el año 2006 el CaP fue el primer tumor maligno en incidencia con una tasa ajustada de 106.2 casos por 100.000 habitantes, aunque existen importantes diferencias entre países. Supone el 11% de todos los cánceres masculinos y es el tercero como causa de muerte, siendo la tasa para el conjunto de países de la Unión Europea en el año 2001 de 13.9 por 100.000 (3,4).

En España, durante los últimos años, el CaP se ha colocado en el tercer lugar como causa de muerte en hombres por detrás de los tumores de pulmón y de los colorrectales. Tiene su mayor impacto en el subgrupo de población con menor expectativa de vida: el 90% de los casos aparecen en mayores de 65 años y producen la muerte a una edad superior a los 75 años. En 2006 se produjeron en España 5.409 defunciones por este tumor, lo que supone una tasa estandarizada por edad de 18 defunciones por 100.000 habitantes. Según las estimaciones parciales de la prevalencia realizadas por la IARC (*Agencia internacional de investigación del cáncer para el año 2002*), en España existirían 44.100 pacientes con CaP de diagnóstico reciente (últimos 5 años) (4).

Las tasas de mortalidad son, sin embargo, considerablemente inferiores a las de incidencia. En España, la tasa ajustada de incidencia estimada para 2006 es de 77.2 casos por 100.000 habitantes (4).

La supervivencia relativa a los 5 años estimada para España se sitúa alrededor del 75%, similar a la europea (74%) (4).

Por todo esto, constituye unos de los problemas sanitarios más importantes en nuestro medio, tanto en términos de morbimortalidad, como de impacto social, económico o sobre la calidad de vida (5).

Presenta una cierta predisposición por la raza negra; si comparamos los casos en la raza

blanca, la incidencia de cáncer es aproximadamente un 60% superior en la raza negra, mientras que los chinos y japoneses nativos tienen un bajo riesgo de incidencia y mortalidad. Sin embargo los afro-americanos generalmente son diagnosticados en unos estadios más avanzados y a una edad más temprana (6).

Histológicamente el CaP está constituido por una mezcla heterogénea de células, principalmente epiteliales y estromales (7, 8). Este proceso comienza con una displasia que se inicia como una atrofia inflamatoria proliferativa (PIA), progresa a neoplasia intraepitelial prostática (PIN) y en algunos casos desemboca en carcinoma. Más del 95% de los CaP son adenocarcinomas que se originan en el epitelio celular. De estos, el 70% ocurren en la zona periférica, 15-20% en la zona central y el 10-15% en la zona transicional. Existen evidencias que apuntan a que uno de los desencadenantes de la tumorigénesis podría ser una inflamación prostática debida a agentes infecciosos o ingesta de carcinógenos. Paralelamente, algunas células acumulan alteraciones génicas que, junto con la señalización androgénica, estimulan el crecimiento y proliferación del tumor (8, 9).

Clínicamente hay dos grandes grupos de CaP; aquellos capaces de diseminarse que acabarán siendo letales y otros que permanecen latentes, lo cual plantea el problema de cómo distinguir unos tumores de otros y el modo de abordaje clínico óptimo en cada caso (8, 9). Estudios basados en autopsias, demuestran que el 30% de los varones mayores de 50 años padecen cáncer de próstata así como que aproximadamente sólo un tercio de los que se descubren en autopsias se han manifestado clínicamente (4, 10).

2. Diagnóstico del cáncer de próstata. PSA

Algunas de las principales técnicas utilizadas en la evaluación del CaP en su etapa inicial son el examen dígito-rectal (DRE), la determinación sérica del antígeno prostático específico (PSA), y la ecografía transrectal de próstata (11, 12). Sin embargo, se ha observado que los niveles de PSA, como variable independiente, parece ser mejor predictor de cáncer que los hallazgos encontrados con el tacto rectal o los

ultrasonidos(13).

El antígeno prostático específico (PSA), descubierto en 1971, es considerado actualmente, el biomarcador más importante para la detección y monitorización del CaP (14, 15). Fue aprobado por la USA Food and Drug Administration (FDA) en 1986 para la monitorización del CaP. En 1994 el test fue aprobado para su uso en la detección del CaP en combinación con el tacto rectal (16).

El PSA es una proteasa humana de la familia de las kalicreinas, con un peso molecular aproximado de 30 KDa. La forma principal es el PSA conjugado con el inhibidor de la serin proteasa, alfa antitripsina (sobre todo) o alfa2-macroglobulina. La alfa1- antitripsina se une aproximadamente al 90 % del PSA sérico y este PSA conjugado a la alfa1-antitripsina funciona como una serin proteasa enzimáticamente inactiva (17). Inicialmente, se pensaba que era sintetizado exclusivamente por las células del epitelio prostático, de ahí que fuera utilizado como biomarcador para el diagnóstico y manejo del CaP (18). Sin embargo, el PSA se ha encontrado también en líneas celulares normales y tumorales así como en fluidos biológicos sintetizados por numerosas células, aunque principalmente por el epitelio prostático (19, 20). La principal ventaja del PSA es su alta sensibilidad, siendo su principal desventaja su escasa especificidad. No existe una concentración de PSA en la que el riesgo de CaP sea inexistente. Esto da lugar a la realización de biopsias innecesarias por valores elevados de PSA, que en algunos casos reflejan un gran volumen prostático en lugar de alto riesgo de CaP (21). La forma precursora del PSA, ProPSA, también puede servir como un indicador adicional en la diferenciación de procesos malignos y benignos (22). Sin embargo, en un grupo de pacientes examinados con niveles de PSA entre 2.5 y 4 ng/ml, el cociente ProPSA/ PSA_L mostró más especificidad en la detección del CaP en comparación con el PSA_L solo (23).

Todo esto hace que la detección precoz y el screening del cáncer de próstata continúen siendo controvertidos.

Un ensayo clínico realizado en 76.693 pacientes no mostró, a los 10 años de seguimiento, diferencias entre la mortalidad por cáncer de próstata y la mortalidad por todas las causas entre los pacientes que se sometieron a cribado mediante PSA con

respecto a los que se sometieron a un cribado mediante tacto rectal (24). Otro ensayo clínico realizado con 162.243 pacientes entre 50 y 74 años sí mostró una reducción en la mortalidad por cáncer de próstata en el grupo sometido a cribado por PSA con respecto al grupo control que no recibió ningún tipo de cribado. Estas diferencias en mortalidad se observaron a partir del séptimo año y consistían en una reducción del riesgo absoluta de 0,71 por 1.000 (reducción del 20% del riesgo relativo). La conclusión del estudio fue que es necesario someter a cribado mediante PSA a 1.440 hombres para evitar 1 muerte por cáncer de próstata. Como consecuencia, de estos 1.440 pacientes, 48 serían sometidos a tratamientos innecesarios(25).

Informes preliminares de un ensayo clínico europeo muestran que aunque un cribado más frecuente produce más diagnósticos de cáncer, la detección de cánceres agresivos fue similar entre los grupos de cribado cada 2 y 4 años(26).

Estudios previos han demostrado que de un 20% al 30% de CaP detectados mediante el screening son pequeños (menos de 0,5cc) y puede ser considerado "insignificante" (27, 28).

Podría concluirse que el efecto adverso del screening es el sobrediagnóstico (detección de cáncer de próstata en pacientes que no hubieran sido diagnosticados de CaP sino se hubieran sometido a las pruebas de screening) y el sobretratamiento (pacientes que no deberían ser tratados si no se hubieran sometido al screening), con el consiguiente aumento del coste y el uso de procedimientos más invasivos.

El diagnóstico de CaP se establece mediante la biopsia de próstata, la cual es una prueba invasiva que se realiza fundamentalmente guiada por ecografía endorrectal. *The British Prostate Testing for Cancer and Treatment Study* al igual que las recomendaciones de la guía de CaP de la *European Urology Association* han recomendado la toma de 10 cilindros biopsicos como estándar (13). La incidencia de CaP detectados por biopsia por saturación (18-20 cilindros) es del 30-43% (13).

Aunque el nivel de corte de lo que se considera un valor normal de PSA no se ha establecido de forma absoluta, se considera que valores inferiores a 2-3 ng/ml se utiliza a menudo para

los hombres más jóvenes(13).

Según las recomendaciones de la Guía de CaP de la *European Urology Association* y el proceso de Hiperplasia Benigna de Próstata/Cáncer de próstata del Servicio Sanitario Andaluz (13, 29), la indicación de biopsia sería la siguiente:

- Sujetos con una edad comprendida entre 50-70 años, con síntomas de tracto urinario inferior y un PSA total (PSA_t) entre 3 y 10ng/ml con un cociente $PSA_L/PSA_t < 20\%$.
- Sujetos entre 40-50 años, con un $PSA_t > 2.5-3ng/ml$ y con antecedentes familiares directos -un familiar de primer grado multiplica por dos el riesgo de CaP, mientras que si son dos los familiares de primer grado que presentan CaP, se multiplican entre 5 y 11 veces el riesgo-, y/o raza negra).
- Velocidad de crecimiento $PSA_t > 0.75ng/ml$ en pacientes con niveles elevados de PSA.
- $PSA_t > 10ng/ml$.
- Tacto rectal (TR) sospechoso independientemente de la cifra de PSA (un TR sospechoso en pacientes con un nivel de PSA por encima de 2ng/ml tiene un VPP de 5-30%).
- En sujetos mayores de 75 años y un PSA_t previo menor de 3ng/ml, la determinación de PSA no es necesaria ya que el riesgo de desarrollar un CaP es baja.

En términos diagnósticos, la primera elevación de PSA no debería llevar a realizar una biopsia inmediatamente sino que debería repetirse (en el mismo laboratorio, usando los mismos métodos) a las pocas semanas, en ausencia de eyaculación, infecciones del tracto urinario o manipulaciones como cateterización uretral, cistoscopia o resección transuretral de próstata. Si el PSA aumenta o se mantiene persistente tras una nueva muestra se indicará la biopsia, así como en los casos de proliferación acinar atípica pequeña (ASAP) detectado en biopsia previa, se repetirá la biopsia. Si la sospecha clínica de cáncer persiste y las biopsias son negativas, podría estar indicada una resonancia magnética nuclear (RMN) para investigar la posibilidad de un cáncer de próstata de localización anterior, seguido de una biopsia endorrectal guiada por ultrasonidos(13).

Sin embargo la tasa de positividad en la primera biopsia, depende de factores conocidos como el PSA, tacto rectal, volumen prostático, PSA_t/PSA_L , etc., y de otros no tanto como la prevalencia de CaP en la población a estudiar. Se ha descrito una tasa de positividad, en primera biopsia, para cáncer de próstata en pacientes con PSA entre 4 y 10 ng/ml y tacto rectal normal del 20-30% (30), ascendiendo al 60% para los que tienen un $PSA > 10ng/ml$ (31). Por otra parte, la biopsia incluye un porcentaje de falsos negativos que se acerca al 30% (32).

En busca de mejorar dicha especificidad se ha recurrido a la densidad (PSAD), velocidad (PSAV; incremento anual del PSA) y % PSA_L (PSA_L/PSA_t) los cuales solo han aportado mejoras marginales en términos de especificidad.

En 1995 Luderer et al (33), promulgaron por primera vez el uso del porcentaje de PSA libre (PSA_L) para la indicación de biopsia de próstata en el rango de PSA_t (4-10 ng/ml). En su estudio mediante curvas ROC demostraron que aisladamente el PSA_t entre 4-10 ng/ml no era capaz de determinar con precisión la positividad o no de cáncer de próstata en la biopsia de próstata y en contraste, el % PSA_L era útil para identificar aquellos hombres con cáncer. Observaron una especificidad del 31% para el % PSA_L frente a un 0% del PSA_t y establecieron el punto de corte en un 25%. López et al (34), en su estudio, confirman las conclusiones de Luderer, ya que en su serie la curva ROC obtenida para el PSA_t no nos permite afirmar con una significación estadística adecuada que sea un buen predictor de positividad para cáncer de próstata en los pacientes seleccionados.

Muchos han sido los estudios posteriores que hay publicados en la literatura presentando puntos de corte que oscilan entre el 14% y el 26%. Catalona et al (35), publican en 1998 un estudio prospectivo multicéntrico en el que se establece inicialmente el punto de corte en un 25% con una sensibilidad del 90% y especificidad del 20% para pacientes con PSA_t entre 4-10 ng/ml y llegando a la conclusión que usando este punto de corte se ahorrarían aproximadamente un 20% de las biopsias realizadas. Posteriormente este mismo autor incluye el subgrupo de pacientes con PSA entre 2,6-4ng/ml, estableciendo, con una sensibilidad del 90% el punto de corte en 26% para este subgrupo.

En el estudio de López et al (34), el punto de corte obtenido para una sensibilidad del 90% y una especificidad del 20% es del 19%. Refieren que si hubiesen incluido 26% como criterio de inclusión, hubieran ahorrado la realización de 139 biopsias (19,11%) y la tasa de biopsia prostática positiva hubiese ascendido del 14,6% al 18,02%, dejando sin diagnosticar 10 tumores prostáticos (tabla I).

Punto de corte % PSA libre	Sensibilidad	Especificidad
10%	32.1%	81.8%
15%	65.1%	51.1%
17%	80.2%	33.5%
18%	86%	26.1%
19%	91.5%	20%
20%	94.3%	14.3%
21%	95.3%	11.9%
25%	99.1%	6.3%
27.5%	100%	3.5%

Tabla I: Sensibilidad y Especificidad en función del punto de corte del % PSA libre

Rohel y et (28), observaron que de los tumores detectados a partir de PSA 2,6 a 4,0 ng/ml, el 80% eran órgano-confinado y de los casos detectados con un PSA mayor de 4,0 ng/ml, esta cifra se redujo al 66%. Además, encontró una correlación inversamente significativa entre el volumen prostático y la tasa de detección de cáncer en la biopsia. Los casos en los que el volumen, medido mediante ecografía endorrectal, era mayor de 30cc, un 23% fueron diagnosticados de CaP en comparación con el 44% de aquellos con un volumen inferior o igual a 30cc ($p > 0,001$). De este artículo también se puede obtener como conclusión, que la rentabilidad de obtener una biopsia positiva disminuye con el número de biopsias.

En consecuencia, el análisis de la literatura parece demostrar que los niveles séricos de PSA aportan información altamente órgano-específica, pero poco específica para la enfermedad, ya que tanto en hiperplasia benigna de próstata como en la prostatitis se producen aumentos séricos de este biomarcador, pero además muchos pacientes con CaP localizado presentan valores de PSA que se solapan con los de sujetos sanos, resultando una zona gris de difícil interpretación el intervalo entre 4-10ng/ml (8).

Por todo esto es muy importante la identificación de nuevos biomarcadores que representen herramientas útiles en el diagnóstico y manejo clínico del CaP. Actualmente, se está trabajando en la búsqueda de biomarcadores tanto urinarios como en sangre, que supongan una alternativa, para superar esa falta de especificidad que ofrece el PSA.

La sangre y la orina contienen productos de degradación de células benignas y malignas y sus productos secretados (21). La detección de biomarcadores en estos fluidos corporales tiene ventajas sobre el uso de marcadores tisulares tales como la no invasividad y el coste económico. Por tanto, el empleo de estos test, a diferencia de la biopsia de próstata, podrían ser particularmente atractivos para una gran selección de candidatos.

Un biomarcador se define como "una molécula encontrada en la sangre u otros fluidos corporales, o en tejidos que es un signo de un proceso normal o anormal o de una condición o una enfermedad". Usualmente se clasifican en tres categorías: pronósticos (predicen el curso de la enfermedad), predictivos (evalúan el probable beneficio de un tratamiento en particular) y farmacodinámicos (evalúan los efectos inminentes del tratamiento sobre el tumor y posiblemente, pueden determinar la dosis adecuada en las primeras etapas del desarrollo clínico de un nuevo fármaco contra el cáncer) (36). Un biomarcador ideal debe ser rápido, coherente, económico y cuantificable en un fluido biológico accesible o en la muestra clínica (por ejemplo plasma, orina o líquido prostático) y que sea fácilmente interpretable por el médico. Además la cantidad y/o sobreactividad del mismo debe ser similar en todos los sujetos. De esta manera proporciona una gran ventaja para el diagnóstico clínico y el seguimiento de actividad de la enfermedad (36).

En esta revisión, nos vamos a centrar en los biomarcadores urinarios. Los tres grupos de marcadores urinarios pueden ser considerados: basados en el ADN, basados en el ARN y basados en proteínas (Tabla 2) (21).

DENTRO DE LOS BASADOS EN EL ADN:

1. La metilación del ADN: la metilación de los dinucleótidos citosina-guanina dentro de las regiones promotoras de genes es uno de los principales mecanismos de inactivación de

genes supresores de tumores. La hipermetilación de varios genes loci se ha asociado con un rango de enfermedades malignas, incluido el CaP. En orina, los marcadores de la metilación son detectados con el uso de una PCR metilación específica sobre células urinarias obtenidas con o sin masaje prostático.

2. GSTP1: la pérdida de la expresión de la glutatión-S-transferasa P (GSTP1) como resultado de la hipermetilación del promotor es la alteración molecular más común publicada en el cáncer de próstata (37). La especificidad de la metilación del GSPT1 para detectar el cáncer de próstata osciló entre el 93-100%. La sensibilidad varió del 21.4% al 38.9% (38, 39, 40, 41), pero fue mejorada con el masaje prostático al 75% (38, 42). Hoque et al (43), examinó la metilación de 9 genes promotores y encontró que una combinación de 4 genes (p16, ARF (p14), MGMT y GSTP1) detectaba el 87% de los cánceres de próstata con una especificidad del 100%.

3. Otros DNA biomarcadores: Chiou et al (44), refiere concentraciones más altas de 8-hidroxideoxiguanosina (es un marcador de la oxidación celular y se ha relacionado con enfermedades malignas) en muestras de orina de pacientes con CaP comparada con controles.

DIAGNÓSTICOS BASADOS EN EL ARN

1. PCA3: en 1999 fue identificado mediante la comparación de patrones de expresión de ARNm entre el tejido tumoral y el adyacente no tumoral (45). En particular, esta herramienta puede ser muy útil a la hora de determinar la necesidad de una re-biopsia en pacientes con un elevado riesgo de cáncer de próstata, pero sin embargo la primera biopsia es negativa, para decidir la primera biopsia, detección de recurrencias después de la prostatectomía radical o radioterapia o para la monitorización de pacientes que estén tomando fármacos que afecten a los niveles de PSA (inhibidores de la 5-alfa reductasa) (46). Hay alguna evidencia sobre que el PCA3 se pueden correlacionar con los determinantes de la agresividad del cáncer, tales como el tamaño del tumor, grado del Gleason y extensión extracapsular (46). No está influenciado por el volumen prostático ni por las prostatitis (13). Los resultados preliminares de un estudio multicéntrico demostraron que la puntuación del PCA3 fue

superior al PSA, al cociente PSA libre/PSA total y densidad de PSA para predecir los resultados de biopsia en pacientes sometidos a una primera biopsia. Los estudios también demostraron una fuerte correlación entre la puntuación del PCA3 la agresividad del cáncer en términos de enfermedad no órgano-confinada y volumen tumoral (en la pieza de prostatectomía radical) (47). La sensibilidad clínica del test PCA3 oscila entre el 50-75% según muchos estudios, sin embargo, esta es menor cuando se usa para la detección de PIN de alto grado. En la actualidad, las pruebas de amplificación de la transcripción mediada por PCA3 está disponible comercialmente en Europa y EE.UU bajo la marca comercial PROGENSA PCA3 (46).

2. ETS fusiones de genes: Los genes de fusión son el resultado de translocaciones cromosómicas que se encuentran comúnmente en las neoplasias de origen hematológico, siendo raro su hallazgo en tumores sólidos (48). El primer informe de fusiones entre el gen 2 androgeno regulado la proteasa serina transmembrana (TMPRSS2) y el factor de transcripción E 26 (ETS) en cáncer de próstata humano fue en 2005 (49). Hessels et al (50), analizó las transcripciones de la fusión TMPRSS2-ETS en la orina de 108 individuos con CaP y encontró una sensibilidad del 37% y una especificidad del 93%. Los VPN y VPP fueron del 36% y 94% respectivamente. No se ha encontrado significación estadística entre las transcripciones de la fusión TMPRSS2-ETS y el Gleason de las biopsias. La sensibilidad de una combinación de PCA3 y análisis de la transcripción TMPRSS2-ETS para detectar CaP fue del 73% (50).

3. AMACR: la coenzima A racemasa alfa-metililina es una enzima que regula la beta-oxidación perioxomal de la cadena de los ácidos grasos. La inmuno-tinción para AMACR en los tejidos prostáticos es actualmente una herramienta estándar adyuvante usada para el diagnóstico del CaP en lesiones atípicas por punción biopsia (51). Cuando los tejidos de cáncer de próstata se compararon con los controles normales, los niveles de ARNm de AMACR estaban unas 9 veces aumentados en el 88% de la muestra de tejidos de cáncer de próstata aunque también se ha visto incrementados en pacientes con hipertrofia benigna de próstata (52). Ouyang et al (53), estudiaron la puntuación de AMACR para llevar a cabo el diagnóstico. El test urinario de AMACR fue superior al PSA sérico en la detección del

CaP. Los autores también informaron que el uso combinado de los valores de AMACR y PCA3 incrementan la sensibilidad al 81% y la especificidad al 84% (comparada con el 70% y 71% respectivamente de la puntuación AMACR sola).

4. GOLM1: proteína de membrana Golgi 1, también conocida como GOLPH2, cuya función es desconocida. El incremento en la expresión de esta proteína se ha observado en los tejidos con cáncer de próstata (54). En estudios realizados, se ha observado que el ARNm GOLM1 ha superado al PSA sérico en la detección del cáncer de próstata. La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para el ARNm GOLM1 fueron del 59%, 71%, 73% y 49% respectivamente (55).

5. Análisis de múltiples marcadores

ARNm: se piensa que pueden mejorar la sensibilidad de la prueba sin sacrificar la especificidad. Laxman et al (56), realizó una PCR cuantitativa después de una amplificación transcriptora en 257 muestras de orina, incluyendo 152 pacientes con CaP y 105 con resultados negativos de la biopsia. Siete marcadores ARNm fueron evaluados (AMACR, ERG, GOLM1, PCA3, SPINNK1, TFF3, TMPRSS2-ERG). En un análisis uni y multivariante, los niveles de expresión de la transcripción (GOLM1, PCA3, SPINNK1, y la fusión TMPRSS2-ETS), fueron predictores significativos de cáncer de próstata.

6. Exosomas urinarios: Los exosomas son vesículas de tamaño nanométrico secretada por una amplia gama de tipos de células normales y neoplásicas. Contienen ambas funcionalidad de ARNm y microARN, llamada ARN exosomal transporte. Debido a que a menudo llevan componentes genéticos que vienen directamente de los tumores, como vesículas, puede ser una fuente útil no invasiva como marcadores en enfermedades renales, incluyendo el cáncer de la próstata (49).

Se ha encontrado elevado la secreción de exosomas en hombres con CaP en comparación con los que no lo tienen (57, 58).

DIAGNÓSTICOS BASADOS EN LAS PROTEÍNAS

1. PSA urinario: la primera publicación de la presencia de PSA urinario fue 1985 (59). Posteriormente, la presencia de PSA urinario después de la prostatectomía radical se asoció

con recurrencia de la enfermedad (60). Se han realizado estudios en los que se demuestra que el cociente PSA urinario/sérico puede ser útil para la detección del cáncer de próstata cuando el nivel de PSA sérico está entre 2.5-10 ng/ml (61). Sin embargo en un estudio este cociente no reporta mejoras en la detección y estadificación del cáncer del próstata con respecto al PSA sérico solo (62).

2. Actividad de la Telomerasa: El TERT codifica la Telomerasa transcriptasa inversa que tiene un papel importante en mantener los telómeros de los extremos cromosómico. Se informa de una sobreactividad del TERT en el 90% de los cánceres de próstata (63).

3. Anexina A3: está implicado en la diferenciación celular y migración y es un marcador proteico inversamente correlacionado con el adenocarcinoma de ovario y el cáncer colorrectal (64). La Anexina fue detectada mediante Western-blot en orina y se observó que su nivel era complementario a los del PSA sérico y tenía una relación inversa con el cancer. La combinación de PSA y anexina A3 urinaria fue superior a la combinación anexina 3 y PSA libre total o porcentaje (65).

4. Metaloproteinasas de la matriz: la metaloproteinasas tienen un papel putativo en el crecimiento, invasión y metástasis tumoral, sobre todo en el cáncer de vejiga. Roy et al (66), encontró que estas proteínas se detectaban significativamente con más frecuencia en la orina de los pacientes con CaP. La presencia de cualquier matriz metaloproteinasa mostró una especificidad del 82% y una sensibilidad del 74% para cáncer de próstata. La presencia de la matriz metaloproteinasa MMP9 fue un predictor independiente de CaP en un análisis multivariado.

5. Proteómica y metabolómica: las plataformas proteómicas permite el análisis rápido de cientos de péptidos. Permite el análisis de las alteraciones en las modificaciones post-traduccionales y los niveles totales de expresión de proteínas que no son detectados por el ARN-basado o ARN-enfocado. Los primeros estudios fueron realizados por Rehman que identificó la calgranulina B (MRP-14) en orina como un marcador potencial de CaP. Los investigadores fueron capaces de discriminar el cáncer de la hipertrofia prostática con una sensibilidad del 64.7% y una especificidad del 71.2% con

calgranulina B (67). Por otro lado, *la sarcosina*, que es un derivado de la N-metilglicina, se encontraba aumentada en el 79% de los CaP metastásicos, en comparación con el 42% del localizado y ninguno en las muestras benignas. La sarcosina y sus enzimas reguladoras probablemente tengan un papel intermediario en la progresión, invasión, migración y modulación tumoral. Los niveles de sarcosina pueden detectarse de forma no invasiva en la orina de los pacientes con CaP órgano-confinado.

6. Otros marcadores proteicos: Lu et al (68), investigó la expresión de la delta-catenina en la orina de pacientes control y con CaP. Los niveles de esta se incrementaron significativamente en la orina de los pacientes con CaP en comparación con las muestra control. El receptor del factor de crecimiento de los hepatocitos (c-met) es un receptor de la tirosin.kinasa que se encuentra sobreexpresado o mutado en diversos tumores malignos, y se ha asociado al CaP agresivo. Russo et al (69), investigó el c-met como un biomarcador de la enfermedad en progresión en muestras de orina de pacientes con CaP localizado y metastásico, observando sobreexpresión del c-met en los pacientes con enfermedad progresiva en comparación con los órgano-confinados o sin tumor. Sin embargo la c-met podría ser detectada en pacientes sin tumor, y la diferencia en los niveles de este marcador entre pacientes con enfermedad localizada y benigna no es significativa. Otros autores han estudiado la β 15 timosina, la cual está prácticamente ausente en el tejido normal, y han observado que en combinación con el PSA sérico mejora la sensibilidad y especificidad en la detección del CaP en un 15% en comparación con el valor del PSA solo (70). El posible valor diagnóstico de la 5 alfa-reductasa tipo 2, Bradeion, transferrina, etc., como marcadores urinarios, también ha sido estudiado (21).

En conclusión, podemos decir que las comparaciones entres estudios son difíciles debido a las grandes discrepancias entre las cohortes, metodología y la manipulación de las muestras de orina, por lo tanto cuestiones como la recolección de orina, la congelación, almacenamiento y técnicas de laboratorio empleadas deben de ser tratados.

En la actualidad, posiblemente la prueba de orina PCA3 es la mejor prueba para suplementar al PSA sérico y predecir el resultado de una biopsia. Se ha demostrado

su relevancia clínica, al proporcionar una mayor precisión diagnóstica que los tradicionales biomarcadores séricos.

Referencias

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-49.
2. Cornu JN, Cancel-Tassin G, Ondet V, Girardet C, Cussenot O. Olfactory Detection of Prostate Cancer by Dogs Sniffing Urine: A Step Forward in Early Diagnosis. *Eur Urol* 2011; 15: 197-201.
3. Heidenreich A, Aus G, Bolla M, Joniau S, Matveev VB, Schmid HP, et al. EAU guidelines on prostate cancer. *Eur Urol*. 2008; 53: 68-80.
4. Cabanes A, Perez-Gomez B, Aragones N, Pollan M, Lopez-Abente G. La situación del cáncer en España, 1975-2006. Instituto de Salud Carlos III. Madrid, 2009.
5. Granado de la Orden S, Saa Requejo C, Quintas Viqueira A. Situación epidemiológica del cáncer de próstata en España. *Actas Urol Esp* 2006; 30: 574-82.
6. Madu CO, Lu Y. Novel diagnostic biomarkers for prostate cancer. *J of Cancer* 2010; 1: 150-77.
7. Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB. Prostate cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 366-81.
8. Fernandez-Serra A, Rubio-Briones J, Garcia-Casado Z, Solsona E, Lopez-Guerrero JA. Cáncer de próstata: la revolución de los genes de fusión. *Actas Urol Esp* 2011; 35: 420-8.
9. Taichman RS, Loberg RD, Mehra R, Pienta KJ. The evolving biology and treatment of prostate cancer. *J Clin Invest* 2007; 117: 2351-61.
10. Scardino et al: Early detection of prostate cancer. *Hum Pathol* 1992; 23: 211-22.
11. Mettlin C, Lee F, Drago J, Murphy GP. The American Cancer Society National Prostate Cancer Detection Project. Findings on the detection of early prostate cancer in 2425 men. *Cancer* 1991; 67: 2949-58.
12. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Dodds KM, Coplen DE, Yuan JJ, et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 1991; 324: 1156-61.
13. Heidenreich A, Bolla M, Joniau S, Mason MD, Matveev VB, Mason MD, et al. Guidelines on prostate cancer. *EAU* 2010: 1-164.
14. Hara M, Koyanagi Y, Inoue T, Fukuyama T. Some physico-chemical characteristics of "-seminoprotein", an antigenic component specific for human seminal plasma. Forensic immunological study of body fluids and secretion. VII. *Nihon Hoigaku Zasshi* 1971; 25: 322-4.
15. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 1979; 17: 159-63.

16. Nogueira L, Corradi R, Eastham JA. Other biomarkers for detecting prostate cancer. *BJU International* 2009; 105: 166-9.
17. Carroll P. Serum prostate specific antigen for prostate cancer early detection: total, free, age stratified, or complexed? *Urology* 2001; 57: 591-3.
18. Chu MT. Prostate-specific antigen and early detection of prostate cancer. *Tumor Biol* 1997; 18: 123-34.
19. Polascik TJ, Oesterling JE, Partin AW. Prostate specific antigen. A decade of discovery-what we have learned and where we are going?. *J Urol* 1999; 162: 293-306.
20. Diamandis EP, Yu H. Nonprostatic sources of prostate-specific antigen. *Urol Clin North Am* 1997; 24: 275-82.
21. Ploussard G, de la Taille A. Urinary biomarkers in prostate cancer. *Nat Rev Urol* 2010; 7: 101-9.
22. Oh WK, Hurwitz M, D'Amico AV, Richie JP, Kantoff PW. Neoplasms of the Prostate. In: Kufe DW, et al editors. *Cancer Medicine*. 6th ed. Hamilton, Ontario, Canada: BC Decker Inc; 2003.
23. Sokoll LJ, Partin AW, Mikolajczyk SD, Rittenhose HR, Evans CE, Linton HJ, et al. Proenzyme psa for the early detection of prostate cancer in the 2.5-4.0 ng/ml total psa range: preliminary analysis. *Urology* 2003; 61: 274-6.
24. Andriole GF. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med*. 2009; 360:1310-9.
25. Schröder FH. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med*. 2009; 360:1320-8.
26. Bonis J. Cribado de cáncer poblacional. *AMF* 2010; 6:480-6.
27. Carter HB, Epstein JI. Prediction of significant cancer in men with stage T1c adenocarcinoma of the prostate. *World J Urol* 1997; 15: 359.
28. Roehl KA, Antenor LV, Catalona WJ. Serial biopsy results in prostate cancer screening study. *J Urol* 2001; 167: 2435-9.
29. Proceso hipertrofia benigna de próstata y/o cáncer de próstata. Cartera de Servicios por Procesos Asistenciales Integrados Servicio Andaluz de Salud. <http://www.sas.juntaandalucia.es/contenidos/publicaciones/datos/180/html/CSProcAsist2004/ProcesoHipertrofiaProstata.pdf>.
30. Hodge KK, McNeal JE, Terris MK, Stamey TA. Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate *J Urol* 1989; 142: 71-4.
31. Andriole GL, Catalona WJ. Using PSA to screening for prostate cancer; The Washington University experience. *Urol Clin North Am* 1993; 20: 647-51.
32. Sanz Perez GG, Zudaire Bergara JJ, Maalik A, Lopez Ferrandis J, Sanchez Zalabardo D, Arocena Garcia-Tapia J, et al. Factores influyentes en la presencia de carcinoma en las biopsias de próstata. *Actas Urol Esp* 2000; 24: 801-4.
33. Luderer AA, Chen YT, Soriano TF, Kramp WJ, Carlson G, Cuny C, et al. Measurement of the proportion of free to total PSA improves diagnostic performance of PSA in the diagnostic gray zone of total PSA. *Urology* 1995; 46:187-94.
34. Lopez Luque A, Gomez Bermudo J, Marquez Lopez J, Leva Vallejo M, Regueiro Lopez JC, Requena Tapia MJ. Determination of free prostatic specific antigen cut point for the selection of patients in first prostate biopsy. *Actas Urol Esp*. 2006; 30:13-7.
35. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, Patel A, et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: A prospective multicenter clinical trial. *JAMA* 1998; 279:1542-47.
36. Sawyers CL. The cancer biomarker problem. *Nature* 2008; 452: 548-52.
37. Sanderson H, Goodman SN, Partin AA, Walsh PC, Epstein JI, et al. Quantitative GSTP1 methylation and the detection of prostate adenocarcinoma in sextant biopsies. *J. Natl Cancer Inst* 2003 95, 1634-7.
38. Cairns P, Esteller M, Herman JG, Schoenberg M, Jeronimo C, Sanchez-Cespedes M, et al. Molecular detection of prostate cancer in urine by GSTP1 hypermethylation. *Clin. Cancer Res* 2001; 7: 2727-30.
39. Goessl C, Krause H, Müller M, Heicappell R, Schrader M, Sachsinger J, et al. Fluorescent methylation-specific polymerase chain reaction for DNA-based detection of prostate cancer in bodily fluids. *Cancer Res* 2000; 60: 5941-5.
40. Goessl C, Müller M, Heicappell R, Krause H, Straub B, Schrader M, et al. DNA-based detection of prostate cancer in urine after prostatic massage. *Urology* 2001; 58: 335-8.
41. Gonzalgo ML, Pavlovich CP, Lee SM, Nelson WG. Prostate cancer detection by GSTP1 methylation analysis of postbiopsy urine specimens. *Clin. Cancer Res* 2003; 9: 2673-7.
42. Woodson K, O'Reilly KJ, Hanson JC, Nelson D, Walk EL, Tangrea JA.. The usefulness of the detection of GSTP1 methylation in urine as a biomarker in the diagnosis of prostate cancer. *J Urol* 2008; 179: 508-11.
43. Hoque MO, Topaloglu O, Begum S, Henrique R, Rosenbaum E, Van Criekinge W. Quantitative methylation specific polymerase chain reaction gene patterns in urine sediment distinguish prostate cancer patients from control subjects. *J Clin Oncol* 2005; 23: 6569-75.
44. Chiou CC, Chang PY, Chan EC, Wu TL, Tsao KC, Wu JT.. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin Chim Acta* 2003; 334: 87-94.
45. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, Smit FP, Karthaus HF, Schalken JA, et al. DD3: a new prostatespecific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999; 59, 5975-5979.
46. Day JR, Jost M, Reynolds A, Groskopf J,

Rittenhouse H. PCA3: from basic molecular science to the clinical lab. *Cancer letters* 2011; 301: 1-6.

47. Nakanishi H, Groskopf J, Fritsche HA, Bhadkamkar V, Blase A, Kumar SV, et al. PCA3 molecular urine assay correlates with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance. *J Urol* 2008; 179: 1804-9.

48. You J, Cozzi P, Walsh B, Willcox M, Kearsley J, Russell P, et al. Innovative biomarkers for prostate cancer early diagnosis and progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010; 73: 10-22.

49. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005; 310: 644-64.

50. Hessels D, Smit FP, Verhaegh GW, Witjes JA, Cornel EB, Schalken JA. Detection of TMPRSS2-ERG fusion transcripts and prostate cancer antigen 3 in urinary sediments may improve diagnosis of prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 5103-8.

51. Jiang Z, Woda BA. Diagnostic utility of alpha-methylacyl CoA racemase (P504S) on prostate needle biopsy. *Adv Anat Pathol* 2004; 11: 316-21.

52. Rogers CG, Yan G, Zha S, Gonzalgo ML, Isaacs WB, Luo J, et al. Prostate cancer detection on urinalysis for alpha methylacyl coenzyme A racemase protein. *J Urol* 2004; 172: 1501-3.

53. Ouyang B, Bracken B, Burke B, Chung E, Liang J, Ho SM. A duplex quantitative polymerase chain reaction assay based on quantification of alpha-methylacyl-CoA racemase transcripts and prostate cancer antigen 3 in urine sediments improved diagnostic accuracy for prostate cancer. *J. Urol* 2009; 181: 2508-13.

54. Dhanasekaran SM, Barrette TR, Ghosh D, Shah R, Varambally S, Kurachi K, et al. Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. *Nature* 2001; 412: 822-6.

55. Varambally S, Laxman B, Mehra R, Cao Q, Dhanasekaran SM, Tomlins SA, et al. Golgi protein GOLM1 is a tissue and urine biomarker of prostate cancer. *Neoplasia* 2008; 10: 1285-94.

56. Laxman B, Morris DS, Yu J, Siddiqui J, Cao J, Mehra R, et al. A first-generation multiplex biomarker analysis of urine for the early detection of prostate cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 645-9.

57. Mitchell PJ, Welton J, Staffurth J, Court J, Mason MD, Tabi Z, et al. Can urinary exosomes act as treatment response markers in prostate cancer? *J Transl Med* 2009; 7: 4.

58. Nilsson J, Skog J, Nordstrand A, Baranov V, Mincheva-Nilsson L, Breakefield XO, et al. Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer. *Br J Cancer* 2009; 100: 1603-7.

59. Graves HC, Sensabaugh GF, Blake ET. Postcoital detection of a male-specific semen protein. Application to the investigation of rape. *N Engl J Med* 1985; 312: 338-43.

60. Iwakiri J, Granbois K, Wehner N, Graves HC, Stamey T. An analysis of urinary prostate specific antigen

before and after radical prostatectomy: evidence for secretion of prostate specific antigen by the periurethral glands. *J Urol* 1993; 149: 783-6.

61. Bolduc S, Lacombe L, Naud A, Grégoire M, Fradet Y, Tremblay RR. Urinary PSA: a potential useful marker when serum PSA is between 2.5 ng/mL and 10 ng/mL. *Can Urol Assoc J* 2007; 1: 377-81.

62. Pannek J, Rittenhouse HG, Evans CL, Finlay JA, Bruzek DJ, Cox JL, et al. Molecular forms of prostatespecific antigen and human kallikrein 2 (hK2) in urine are not clinically useful for early detection and staging of prostate cancer. *Urology* 1997; 50: 715-21.

63. Sommerfeld HJ, Meeker AK, Piatyszek MA, Bova GS, Shay JW, Coffey DS. Telomerase activity: a prevalent marker of malignant human prostate tissue. *Cancer Res.* 1996; 56: 218-22.

64. Madoz-Gúrpide J, López-Serra P, Martínez-Torrecedradora JL, Sánchez L, Lombardía L, Casal JI. Proteomics-based validation of genomic data: applications in colorectal cancer diagnosis. *Mol Cell Proteomics* 2006; 5: 1471-83.

65. Schostak M, Schwall GP, Poznanović S, Groebe K, Müller M, Messinger D, et al. Annexin A3 in urine: a highly specific noninvasive marker for prostate cancer early detection. *J Urol* 2009; 181: 343-53.

66. Roy R, Louis G, Loughlin KR, Wiederschain D, Kilroy SM, Lamb CC, et al. Tumor-specific urinary matrix metalloproteinase fingerprinting: identification of high molecular weight urinary matrix metalloproteinase species. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 6610-7.

67. Rehman I, Azzouzi AR, Catto JW, Allen S, Cross SS, Feeley K, et al. Proteomic analysis of voided urine after prostatic massage from patients with prostate cancer: a pilot study. *Urology* 2004; 64: 1238-43.

68. Lu Q, Zhang J, Allison R, Gay H, Yang WX, Bhowmick NA, et al. Identification of extracellular delta catenin accumulation for prostate cancer detection. *Prostate* 2009; 69: 411-8.

69. Russo AL, Jedlicka K, Wernick M, McNally D, Kirk M, Sproull M, et al. Urine analysis and protein networking identify met as a marker of metastatic prostate cancer. *Clin. Cancer Res* 2009; 15: 4292-8.

70. Hutchinson LM, Chang EL, Becker CM, Ushiyama N, Behonick D, Shih MC, et al. Development of a sensitive and specific enzyme-linked immunosorbent assay for thymosin beta15, a urinary biomarker of human prostate cancer. *Clin Biochem* 2005; 38: 558-71.